

TUYỂN CHỌN MỘT SỐ CHỦNG VI KHUẨN VÀ NẤM RỄ ARBUSCULAR MYCORRHIZAL FUNGI (AMF) CÓ KHẢ NĂNG CHUYỂN HÓA, HẤP THU CU, PB, ZN CAO ĐỂ CẢI TẠO ĐẤT Ô NHIỄM KIM LOẠI NẶNG

Isolation Some Microorganisms and Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) Having High Transformation and Absorbability Copper, Lead and Zinc to Reclaim Heavy Metal Contaminated Soils

Phan Quốc Hưng¹, Nguyễn Hữu Thành¹, Lê Như Kiều², Nguyễn Viết Hiệp²

¹Trường Đại học Nông nghiệp Hà Nội

²Viện Thổ nhưỡng Nông hóa - Viện Khoa học Nông nghiệp Việt Nam

Địa chỉ email tác giả liên hệ: hungbg@hua.edu.vn

TÓM TẮT

Ô nhiễm kim loại nặng trong đất đang là vấn đề hết sức nghiêm trọng tại Việt Nam. Để đánh giá mức độ ô nhiễm đất, mẫu đất được lấy tại các vùng đất nông nghiệp bị ô nhiễm kim loại nặng và một số loài thực vật siêu tích lũy được lựa chọn. Một thí nghiệm trong chậu cũng đã được tiến hành để đánh giá khả năng kết hợp giữa vi sinh vật với cây Mương dứng cho việc phục hồi đất. Kết quả đã chỉ rõ rằng hầu hết các mẫu đất đều bị ô nhiễm kim loại nặng (Cu, Pb, Zn) so với quy chuẩn 03:2008/BTNMT. 100% mẫu đất ô nhiễm đồng và chì, 58,33% mẫu đất tại Đông Mai có hàm lượng kim loại nặng vượt ngưỡng cho phép. Tại Làng Hích, Có 5/8 mẫu đất ô nhiễm chì và kẽm, 4/8 mẫu đất ô nhiễm đồng. Nghiên cứu cũng phân lập được 64 chủng vi khuẩn và nấm rễ từ các mẫu đất vùng rẫy. Tiến hành đánh giá khả năng kháng kim loại nặng cho thấy 11/49 chủng vi khuẩn có khả năng kháng ở 10mM Cu, 10mM Zn và 10 mM Pb. Có 9/15 chủng nấm rễ AMF kháng mức 5 mM các kim loại nặng. Khả năng hấp thu cao nhất đạt được ở chủng vi khuẩn TB22 và nấm rễ AMF4. Thí nghiệm trong chậu cho thấy giữa vi sinh vật và thực vật có sự kết hợp làm tăng hàm lượng kim loại nặng tích lũy trong các bộ phận của cây Mương dứng. Mức tích lũy cao nhất đạt được ở công thức 3 (bón 2g chế phẩm/kg đất khô).

Từ khóa: Đất ô nhiễm kim loại nặng, hấp thu, khả năng kháng, vi sinh vật.

SUMMARY

Heavy metal contaminated soils are very serious problems in Vietnam. In order to examine soil contamination levels, soil samples in some agricultural land were taken and hyperaccumulative plants were selected for soil remediation. A pot experiment was conducted to estimate the combination ability of microorganism with common willow herb for soil remediation. The results show that almost soil samples were contaminated heavy metal (copper, zinc, and lead) to compare with Vietnam standard for contaminated soils. There are 100 percent of soil samples over standard of lead and copper, 58.33 percent soil samples having heavy metal over standard in Dong Mai village. There were also 5/8 soil samples polluted lead and zinc, 4/8 soil samples polluted copper in Lang Hich village. Study also has isolated 64 of bacteria and Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) from soil samples in rhizosphere zone. Resistant ability and absorbability of these micro-organisms were assessed. There are 11/49 bacteria species resisted at over level of 10 mM Zn, 10 mM Cu and 10 mM Pb and 9/15 AMF species have resisted at over level of 5 mM of heavy metals. The highest absorbability is TB22 bacterium species and AMF4. The pot experiment showed that combinative ability of microorganism species and Common Willow Herb (*Jussiaea fissentocarpa* Haines) was increased plant absorbability in stem, leaf and root. The plant has uptaken the highest concentration in the third treatment (2 g microorganism.kg-1 dried soils).

Key words: Absorbability, Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF), heavy metal contaminated soils, micro-organism, resistance.

1. ĐẶT VẤN ĐỀ

Ô nhiễm môi trường nói chung và ô nhiễm đất nói riêng đã và đang là vấn đề được quan tâm trên thế giới. Việt Nam và các nước đang phát triển luôn phải đối mặt với nguy cơ ô nhiễm đất ngày càng nghiêm trọng và một trong những nguyên nhân ô nhiễm đất được chú ý là kim loại nặng.

Kim loại nặng là các kim loại có tỷ khối lớn hơn 5 g/cm³, trong tự nhiên có hơn 70 nguyên tố kim loại nặng. Nhiều nghiên cứu cho biết, chỉ có một số nguyên tố cần thiết cho sinh vật, đó là các nguyên tố vi lượng như Cu, Zn, Mn, Bo... Các nguyên tố này là phần thiết yếu trong một số enzym và cấu trúc của cơ thể sinh vật. Khi thừa hay thiếu các nguyên tố này đều trở nên bất lợi với sinh vật (Hawkes, 1997).

Hai nguồn được coi là có khả năng gây ô nhiễm kim loại nặng lớn là các mỏ khai thác kim loại nặng và làng nghề tái chế kim loại nặng.

Theo số liệu gần đây nhất, hiện cả nước có 1.450 làng nghề, riêng vùng đồng bằng sông Hồng có khoảng 800 làng. Trong vòng 10 năm qua, làng nghề ở nông thôn có tốc độ tăng trưởng nhanh, trung bình đạt khoảng 8%/năm tính theo giá trị đầu ra. Do thiếu quy hoạch, quy trình công nghệ sản xuất thô sơ, lạc hậu, phần lớn các cơ sở sản xuất ở các làng nghề có quy mô hộ gia đình đơn lẻ, vốn đầu tư thấp nên chưa tận dụng được tối đa nguồn nguyên liệu trong sản xuất, phát sinh nhiều phế thải gây ra ô nhiễm môi trường (Ngô Đông - Đài Tiếng nói Việt Nam ngày 8/12/2006). Cùng với làng nghề, ô nhiễm kim loại nặng từ các mỏ khai thác cũng ngày càng trở nên nghiêm trọng. Mỏ kẽm chì Làng Hích thuộc xã Tân Long, huyện Đông Hỷ, tỉnh Thái Nguyên đã được phát hiện và khai thác từ thời thực dân Pháp, sau một thời gian không khai thác đến năm 1980 được khôi phục lại. Hiện nay, mỏ đang sử dụng công nghệ tuyển quặng ướt, vì vậy bãi xỉ thải của mỏ là một trong những khu vực có nguy cơ gây ô nhiễm cao cho đất.

Ô nhiễm kim loại nặng trong đất kéo theo ô nhiễm kim loại nặng trong lương thực, thực phẩm từ đó gây hại cho cơ thể con người. Rất nhiều bệnh hiểm nghèo của con người được cho là có nguồn gốc từ ô nhiễm kim loại nặng trong đất. Chính vì sự nguy hại của ô nhiễm kim loại nặng trong đất mà ngày càng có nhiều nghiên cứu về biện pháp quản lý, giảm thiểu tiến đến loại bỏ chúng khỏi đất. Mỗi phương pháp xử lý ô nhiễm có ưu và nhược điểm riêng, tùy từng điều kiện cụ thể cũng như nguyên nhân gây nên ô nhiễm mà áp dụng cho phù hợp. Một trong những biện pháp xử lý ô nhiễm kim loại nặng trong đất được quan tâm hiện nay và có triển vọng do những ưu điểm của phương pháp mang lại cho hệ sinh thái, đó là sử dụng thực vật và các vi sinh vật trong xử lý ô nhiễm kim loại nặng.

Tuyển chọn một số chủng vi khuẩn và nấm rễ *Arbuscular Mycorrhizal Fungi* (AMF) có khả năng chuyển hóa, hấp thu Cu, Pb, Zn để cải tạo đất ô nhiễm kim loại nặng” là hướng đi có triển vọng, đáp ứng được mong đợi của thực tiễn, góp phần mang lại hiệu quả cho hệ sinh thái.

2. VẬT LIỆU VÀ PHƯƠNG PHÁP NGHIÊN CỨU

2.1. Vật liệu nghiên cứu

Các vi sinh vật vùng rễ tại các khu vực đất ô nhiễm thuộc vùng đất nông nghiệp thôn Đông Mai, xã Chỉ Đạo, huyện Văn Lâm, tỉnh Hưng Yên và đất vùng mỏ kẽm chì Làng Hích, xã Tân Long, huyện Đông Hỷ, tỉnh Thái Nguyên.

Cây Mương dứng (*Jussiaea fissendocarpa Haines*) được dùng kết hợp với các vi sinh vật để lấy kim loại nặng ra khỏi đất ô nhiễm.

2.2. Phương pháp nghiên cứu

Xác định hàm lượng kim loại nặng

Tiến hành lấy mẫu đất phân tích hàm

lượng kim loại nặng theo tiêu chuẩn TCVN 5297:1995. Tại mỏ kẽm chì Làng Hích, lấy 3 mẫu tại các điểm trên bãi thải của mỏ, 1 mẫu tại bờ đập ngăn của bãi thải, 2 mẫu tại cửa hầm khai thác quặng, 1 mẫu bờ suối nước trước cổng mỏ và 1 mẫu tại vườn cây của người dân địa phương cách bãi thải 200 m.. Hàm lượng kim loại nặng tổng số được xác định theo TCVN 6496 ISO 11047:1995 và hàm lượng kim loại nặng dễ tiêu được xác định theo phương pháp axit HCl pha loãng, đo trên máy quang phổ hấp thụ nguyên tử (AAS). Dựa trên kết quả phân tích sẽ đánh giá mức độ ô nhiễm kim loại nặng (Cu, Pb, Zn) theo quy chuẩn Việt Nam QCVN 03:2008/BTNMT.

Phân lập tuyển chọn các chủng vi khuẩn, nấm rễ có khả năng kháng, hấp thu kim loại nặng

Mẫu đất dùng cho phân lập, tuyển chọn vi sinh vật vùng rễ được lấy tại các điểm ô nhiễm theo Wollum (1982); Clark, Hayman (1982); Rich và Barnard (1984). Phân lập vi khuẩn trên môi trường TSA (Tryptic Soy Agar) với thành phần có trong 1000 ml là 17g Tryptone, 3 g Soytone, 2,5 g Dextrose, 5 g NaCl, 2,5 g K₂HPO₄, 15 g Agar. Nấm rễ (AMF: *Arbuscular mycorrhiza fungi*) được phân lập theo phương pháp sàng ướn, ly tâm qua thang nồng độ sucrose 50% (trích theo tác giả Bénon, 2001).

Kiểm tra khả năng kháng và hấp thu kim loại

Kiểm tra nhanh khả năng kháng và hấp thu Zn, Cu, Pb theo phương pháp thạch đĩa của Munger (2002). Đĩa được ủ ở 28°C trong 72 giờ; Kiểm tra khả năng kháng và hấp thu Zn, Cu, Pb theo phương pháp dịch thể của Malik và Jaiswal (2000) (trích theo Benson, 2001), nồng độ kiểm tra là 1; 5; 10 và 20 mM.

Đánh giá khả năng kết hợp của vi khuẩn và nấm với thực vật trên đất ô nhiễm

Bảng thí nghiệm chậu vại: chậu gốm có kích thước 45 x 30 cm, mỗi chậu chứa 5 kg đất khô ô nhiễm Cu, Pb, Zn lấy tại cánh đồng Mả Bìm, thôn Đông Mai, xã Chỉ Đạo, huyện Văn Lâm, tỉnh Hưng Yên.

Thí nghiệm gồm 4 công thức với 3 lần nhắc lại:

+ Công thức 1 (đối chứng - ĐC): Không bón chế phẩm vi sinh vật.

+ Công thức 2 (VSV1): Bón 0,5 g chế phẩm vi sinh vật/kg đất khô.

+ Công thức 3 (VSV2): Bón 1 g chế phẩm vi sinh vật/kg đất khô.

+ Công thức 4 (VSV3): Bón 2 g chế phẩm vi sinh vật/kg đất khô.

(Chế phẩm là hỗn hợp của hai chủng vi khuẩn TB22 và nấm rễ AMF4 trên cơ chất than bùn, kiểm tra chất lượng theo tiêu chuẩn Việt Nam TCVN 6168-2002).

Hàm lượng Cu, Pb, Zn trong thực vật và trong đất được theo dõi trước và sau thí nghiệm.

Xử lý kết quả thí nghiệm bằng phần mềm SAS system 9.0.

3. KẾT QUẢ NGHIÊN CỨU VÀ THẢO LUẬN

3.1. Đánh giá mức độ ô nhiễm kim loại nặng trong đất tại các khu vực nghiên cứu

Ô nhiễm kim loại nặng tại Việt Nam chủ yếu mang tính cục bộ, tập trung ở các điểm có nguy cơ cao về phát thải kim loại nặng, đặc biệt là mỏ kim loại và làng nghề cơ kim khí, tái chế kim loại. Những vùng đất xung quang các điểm này thường hứng chịu lượng lớn các chất thải rắn, lỏng và khí từ hoạt động của các điểm nguồn và hậu quả là đất bị ô nhiễm khá nghiêm trọng. Kết quả phân tích nồng độ kim loại nặng và đánh giá mức độ ô nhiễm kim loại nặng (Cu, Zn, Pb) tại các vùng nghiên cứu được trình bày ở bảng 1 và 2.

Bảng 1. Hàm lượng kim loại nặng trong đất nông nghiệp thôn Đông Mai, xã Chỉ Đạo, huyện Văn Lâm, tỉnh Hưng Yên

TT	Hàm lượng dễ tiêu (mg/kg đất)			Hàm lượng tổng số (mg/kg đất)		
	Cu	Zn	Pb	Cu	Zn	Pb
1	61,32	62,74	576,28	99,95	207,10	1045,02
2	69,58	62,81	587,69	98,82	202,17	1204,42
3	55,69	55,82	534,44	111,23	190,53	1069,03
4	68,95	63,43	586,43	116,30	213,40	1310,62
5	39,62	53,54	563,60	72,69	175,54	1031,97
6	56,42	64,89	547,12	101,56	216,19	1152,34
7	42,53	54,02	485,62	87,10	181,47	834,19
8	51,24	55,89	525,56	95,59	185,39	950,68
9	83,57	63,78	556,63	135,18	214,92	1223,77
10	67,50	61,70	620,03	108,19	217,52	1082,98
11	50,79	60,67	501,47	85,51	202,12	965,24
12	46,98	59,21	504,64	87,50	194,91	869,62
13	55,06	59,42	517,32	92,02	206,27	1040,69
14	62,68	61,91	556,63	95,34	199,36	1036,70
15	53,79	56,37	530,00	95,71	203,42	1025,68
16	65,14	63,57	578,18	95,02	210,64	1174,37
17	56,69	59,42	538,24	91,53	192,13	893,88
18	61,23	62,40	601,01	104,64	204,76	1215,62
19	54,78	55,96	539,51	92,79	183,18	938,37
20	58,69	59,97	554,73	95,71	184,29	1043,47
21	60,87	61,36	568,04	96,23	220,68	1067,74
22	61,69	63,36	569,94	102,69	189,94	1109,07
23	62,32	66,06	560,43	99,52	214,08	1189,61
24	66,95	63,92	604,81	101,18	214,69	1212,88
QCVN				50	200	70

Bảng 2. Hàm lượng tổng số của kim loại nặng trong đất tại mỏ kẽm chì Làng Hích, xã Tân Long, huyện Đông Hy, tỉnh Thái Nguyên

Ký hiệu mẫu	Vị trí lấy mẫu	Hàm lượng kim loại nặng tổng số (mg/kg)		
		Zn	Cu	Pb
TN1	Bờ đập ngăn bãi thải	1766,93	24,37	1277,99
TN2	Trên bãi thải	2825,61	52,33	5003,43
TN3	Trên bãi thải	2955,15	38,10	4441,07
TN4	Trên bãi thải	3038,10	49,78	8752,60
TN5	Bờ suối trước cổng mỏ	914,64	55,23	6322,75
TN6	Cửa hầm khai thác số 1	64,55	67,80	53,96
TN7	Cửa hầm khai thác số 2	90,15	68,28	59,18
TN8	Vườn cây cách bãi thải 100 m	88,96	66,70	47,68
QCVN		200	50	70

Bảng 1 cho thấy, 100% các mẫu có hàm lượng đồng và chì vượt ngưỡng cho phép, 58,33% mẫu có hàm lượng kẽm vượt ngưỡng cho phép (hàm lượng tổng số của đồng vượt ngưỡng từ 1,5 đến 2,7 lần; hàm lượng tổng số của chì vượt ngưỡng từ 11,9 đến 18,7 lần; hàm lượng tổng số của kẽm xấp xỉ ngưỡng cho phép). Nghiêm trọng hơn, hàm lượng dễ tiêu - dạng linh động của các kim loại nặng đồng và chì - cũng rất cao, dao động từ 39,62 đến 83,57 mg/kg đất đối với đồng (vượt ngưỡng cho phép đối với đồng tổng số từ 0,79 đến 1,67 lần) và từ 485,62 đến 620,03 mg/kg đối với Pb (vượt ngưỡng cho phép đối với chì tổng số từ 6,94 đến 8,86 lần). Ngoài xã Chỉ đạo, sự ô nhiễm kim loại nặng diễn ra ở các làng nghề tại huyện Văn Lâm khá phổ biến. Các tác giả Lê Đức và Lê Văn Khoa (2001) tiến hành phân tích một số mẫu đất ở làng nghề tái chế đồng thuộc xã Đại Đồng - Văn Lâm - Hưng Yên cho thấy: hàm lượng Cu từ 43,68 - 69,68 mg/kg; Pb từ 147,06 - 661 mg/kg; Zn từ 23,6 - 62,3 mg/kg (thuộc loại đất có hàm lượng Zn di động cao).

Kết quả phân tích hàm lượng kim loại nặng tổng số (Cu, Zn, Pb) cho thấy mức độ tích lũy kẽm và chì ở các mẫu trên bãi thải bờ đập ngăn bãi thải và bờ suối cống mả rất cao, vượt ngưỡng cho phép nhiều lần (mức độ tích lũy kẽm vượt ngưỡng quy định cho đất công nghiệp từ 3 đến 10 lần, hàm lượng chì vượt ngưỡng quy định cho đất công nghiệp từ 4 đến 29 lần). Trong khi đó, mức độ tích lũy đồng vẫn chưa vượt ngưỡng quy định theo quy chuẩn Việt Nam. Mặc dù hàm lượng kim loại nặng trên bãi thải rất cao nhưng trong đất tầng mặt tại vườn gần bãi thải vẫn chưa có dấu hiệu ô nhiễm do hàm lượng Zn, Cu, Pb thấp hơn mức cho phép (Bảng 2). Các mẫu tại cửa hầm khai thác cũng có hàm lượng Zn, Cu, Pb dưới ngưỡng cho phép chứng tỏ việc khai thác quặng dưới độ sâu 200 - 300 m hầu như ít ảnh hưởng đến đất xung quanh, mặt khác

mức độ phát tán quặng sau khai thác chưa làm ô nhiễm đất trong phạm vi nghiên cứu. Nghiên cứu của một số tác giả tại mỏ Làng Hích cũng cho thấy những kết quả tương tự. Theo Đặng Thị An và cs. (2008), ở mỏ Làng Hích, hàm lượng chì và cadimi đạt cao nhất ở trong khu bãi thải (5,3.10³ - 9,2.10³ ppm và 5,9 - 9,05 ppm), đất vườn nhà dân khu vực này có hàm lượng thấp nhất. Khu vực bãi thải cũ có hàm lượng cao nhất ở trong bãi thải (1,1.10³ - 13.10³ ppm và 11,34 - 61,04 ppm) sau đó là các ruộng lúa (1271 - 3953 ppm và 2,30 - 42,90 ppm). Ngay cả nhà dân gần khu vực cũng có hàm lượng chì và cadimi cao hơn tiêu chuẩn.

3.2. Phân lập, tuyển chọn các chủng vi sinh vật có khả năng kháng, hấp thu kim loại nặng cao

Kết quả đã phân lập được 64 chủng vi khuẩn và nấm rễ (trong đó có 49 chủng vi khuẩn, 15 chủng nấm rễ AMF). Một số đặc điểm đặc điểm hình thái của các chủng vi sinh vật được trình bày ở bảng 3 và 4.

Quá trình hấp thụ kim loại nặng bởi vi sinh vật phụ thuộc vào tính chất lý - hoá, bản chất hoá học của kim loại và sinh lý học tế bào. Với các chủng vi khuẩn và nấm rễ thu được, chúng tôi tiến hành đánh giá khả năng hấp thụ kim loại nặng (Cu, Pb, Zn) trong phòng. Kết quả thí nghiệm mức hấp thụ chì, đồng, kẽm cho thấy chủng vi khuẩn hấp thụ cao nhất là TB22 (193,46 mg Pb; 86,54 mg Zn; 101,12 mg Cu). Nấm rễ hấp thụ cao nhất ở chủng AMF4 (657,48 mg Pb; 125,80 mg Zn; 97,19 mg Cu).

Bảng số liệu cũng cho ta nhận xét: hiệu quả hấp thụ của 14 chủng vi sinh vật đối với 3 loại kim loại nặng kiểm tra: Pb, Zn và Cu đều nhỏ hơn 50% trong điều kiện thí nghiệm không kết hợp với thực vật, không gắn kết vi sinh vật với đất hoặc các màng trao đổi. Hiệu quả hấp thụ cao ở đồng và kẽm, tuy nhiên tổng lượng hấp thụ cao nhất là chì (Bảng 5 và Bảng 6).

Bảng 3. Chủng vi sinh vật có khả năng kháng kim loại nặng phân lập được tại đất nông nghiệp bị ô nhiễm xã Chỉ Đạo, Văn Lâm, Hưng Yên

STT	Ký hiệu chủng	Nguồn mẫu	Loại vi sinh vật	Đặc điểm, hình thái khuẩn lạc hoặc bào tử
1	TB1	ĐM1	Vi khuẩn	Nhỏ, tròn, vàng nhạt, bong, lồi
2	TB2	ĐM1	Vi khuẩn	Nhỏ, tròn, trắng, bóng, lồi
3	TB3	ĐM1	Vi khuẩn	To, tròn mép viền răng cưa, trắng, bóng, lồi
4	TB4	ĐM1	Vi khuẩn	To, tròn, trắng, bóng, lồi
5	TB5	ĐM1	Vi khuẩn	To, tròn mép viền răng cưa, vàng nhạt, bóng, lồi
6	TB6	ĐM2	Vi khuẩn	To, elip, vàng, khô, dẹt
7	TB7	ĐM2	Vi khuẩn	To, tròn, vàng nhạt, khô, dẹt
8	TB8	ĐM2	Vi khuẩn	Nhỏ, tròn có vành ở mép, khô, dẹt
9	TB9	ĐM2	Vi khuẩn	To, elip, vàng, bóng
10	TB10	ĐM2	Vi khuẩn	Nhỏ, tròn, nâu, khô, dẹt
11	TB11	ĐM2	Vi khuẩn	To, tròn có vành ở mép, vàng, bóng, lồi
12	TB12	ĐM2	Vi khuẩn	Nhỏ, elip, vàng, bóng, lồi
13	TB13	ĐM2	Vi khuẩn	To, tròn mép viền răng cưa, nâu, khô, dẹt
14	TB14	ĐM9	Vi khuẩn	Nhỏ, tròn mép có viền, hồng, bóng, nhầy
15	TB15	ĐM9	Vi khuẩn	To, hình không đều, hồng, khô, dẹt
16	TB16	ĐM9	Vi khuẩn	To, hình không đều, trắng trong, bóng, lồi
17	TB17	ĐM9	Vi khuẩn	Nhỏ, hình không đều, trắng, khô, dẹt
18	TB18	ĐM9	Vi khuẩn	Nhỏ, dạng rế, hồng nhạt, bóng, lồi
19	TB19	ĐM9	Vi khuẩn	Nhỏ, tròn mép dạng rế, đỏ, bóng, lồi
20	TB20	ĐM9	Vi khuẩn	Nhỏ, elip, nâu nhạt, khô, dẹt
21	TB21	ĐM9	Vi khuẩn	To, elip, hồng nhạt, bóng, lồi
22	TB22	ĐM9	Vi khuẩn	Nhỏ, tròn mép viền răng cưa, hồng, khô, dẹt
23	TB23	ĐM9	Vi khuẩn	To, dạng rế, trắng, bóng, lồi
24	TB24	ĐM9	Vi khuẩn	Nhỏ, dạng rế, trắng trong, khô, dẹt
25	TB25	ĐM13	Vi khuẩn	Nhỏ, tròn mép dạng rế, nâu nhạt, bóng, lồi
26	TB26	ĐM13	Vi khuẩn	Nhỏ, elip, vàng, khô, dẹt
27	TB27	ĐM13	Vi khuẩn	To, tròn có vành ở mép, nâu nhạt, bóng, lồi
28	TB28	ĐM13	Vi khuẩn	Nhỏ, elip, trắng trong, bóng, lồi
29	TB29	ĐM13	Vi khuẩn	To, tròn mép dạng rế, trắng đục, khô, dẹt
30	AMF 1	ĐM19	Nấm rễ	Bào tử hình cầu, không màu (00/00/20/00), kích thước 180 – 240 µm. Thành bào tử có cấu trúc kiểu liên tiếp, gồm 2 lớp mỏng
31	AMF 2	ĐM19	Nấm rễ	Bào tử thường có hình cầu và gần hình cầu, một số có hình elip. Bào tử có màu vàng xanh hoặc màu kem (mã màu từ 00/30/20/00 đến 20/60/20/00). Kích thước khoảng 240 - 260µm. Thành bào tử có cấu trúc nối tiếp, gồm 3 – 5 lớp
32	AMF 3	ĐM19	Nấm rễ	Bào tử hình cầu hoặc gần hình cầu, đa số có màu trắng, vàng hoặc vàng kem, đôi khi có màu nâu đỏ hay màu đen (mã màu 40/60/20/00 đến 60/80/20/00). Kích thước bào tử 300 – 360 µm. Thành bào tử có 3 lớp.

STT	Ký hiệu chủng	Nguồn mẫu	Loại vi sinh vật	Đặc điểm, hình thái khuẩn lạc hoặc bào tử
33	AMF4	ĐM19	Nấm rễ	Bào tử có hình cầu, gần hình cầu, màu sắc từ trắng tới kem hoặc vàng đậm (mã màu 00/30/20/00 đến 00/30/100/10), kích thước 280 – 300 μm . Thành bào tử có 3 – 5 lớp
34	AMF5	ĐM20	Nấm rễ	Bào tử có hình dạng thay đổi (hình cầu, hình trứng, hoặc hình bất thường), màu sắc đa dạng (từ vàng tới nâu vàng) nhưng cuống luôn có màu vàng (mã màu 0/20/20/00 đến 20/40/20/00). Kích thước bào tử 50 – 70 μm . Đặc biệt, có quả bào tử. Thành bào tử có 2 lớp mỏng
35	AMF6	ĐM20	Nấm rễ	Bào tử có hình cầu, gần hình cầu hoặc hình elip. Bào tử có cuống và thường mọc thành chùm. Quả bào tử có màu nâu nhạt, tối tới đen (00/30/20/00 đến 60/80/20/00), kích thước 80 – 95 μm . Thành bào tử có 1 lớp, không bắt màu khi nhuộm Melzer
36	AMF7	ĐM20	Nấm rễ	Bào tử hình cầu hoặc gần hình cầu, có vết nứt xuyên tâm, không có cuống. Bào tử có màu đỏ nâu (20/80/20/00 đến 20/80/100/10), kích thước 90 – 110 μm . Thành bào tử mỏng và chỉ có 1 lớp
37	AMF8	ĐM20	Nấm rễ	Bào tử có hình cầu hoặc gần hình cầu, mã màu từ 20/80/20/00 đến 20/60/100/10) kích thước 30 – 160 μm . Thành bào tử có 2 lớp, lớp trong có màu nâu sáng hoặc nâu đậm

Bảng 4. Chủng vi sinh vật có khả năng kháng kim loại nặng phân lập được tại đất nông nghiệp bị ô nhiễm xã Tân Long, Đồng Hỷ, Thái Nguyên

STT	Ký hiệu chủng	Nguồn mẫu	Loại vi sinh vật	Đặc điểm, hình thái khuẩn lạc hoặc bào tử
1	DB1	ĐH2	Vi khuẩn	Nhỏ, tròn, nâu nhạt, bong, lồi
2	DB2	ĐH2	Vi khuẩn	Nhỏ, tròn, trắng, khô, lõm
3	DB3	ĐH2	Vi khuẩn	To, tròn mép viền răng cưa, nâu vàng, bóng, lồi
4	DB4	ĐH2	Vi khuẩn	To, tròn, trắng đục, bóng, lồi
5	DB5	ĐH2	Vi khuẩn	To, tròn mép viền răng cưa, vàng nhạt, bóng, lồi
6	DB6	ĐH6	Vi khuẩn	To, elip, vàng, khô, dẹt
7	DB7	ĐH6	Vi khuẩn	To, tròn, vàng nhạt, khô, dẹt
8	DB8	ĐH6	Vi khuẩn	Nhỏ, tròn có vành ở mép, khô, dẹt
9	DB9	ĐH6	Vi khuẩn	To, tròn có vành ở ngoài, vàng, bóng
10	DB10	ĐH6	Vi khuẩn	Nhỏ, tròn, vàng nhạt, khô, dẹt
11	DB11	ĐH6	Vi khuẩn	To, tròn có vành ở mép, nâu đậm, bóng, lồi
12	DB12	ĐH9	Vi khuẩn	Nhỏ, elip, vàng, bóng, lồi
13	DB13	ĐH9	Vi khuẩn	To, tròn mép viền răng cưa, nâu, bóng, lõm
14	DB14	ĐH9	Vi khuẩn	Nhỏ, tròn mép có viền, hồng, bóng, nhày
15	DB15	ĐH9	Vi khuẩn	To, hình không đều, hồng, khô, dẹt
16	DB16	ĐH9	Vi khuẩn	To, hình không đều, trắng đục, bóng, lồi
17	DB17	ĐH9	Vi khuẩn	Nhỏ, hình không đều, trắng, khô, dẹt
18	DB18	ĐH9	Vi khuẩn	Nhỏ, dạng rế, vàng nhạt, bóng, lồi
19	DB19	ĐH9	Vi khuẩn	Nhỏ, tròn mép dạng rế, đỏ, bóng, lồi
20	DB20	ĐH9	Vi khuẩn	Nhỏ, tròn có viền răng cưa, nâu nhạt, khô, dẹt
21	AMF 18	ĐH6	Nấm rễ	Bào tử có hình cầu hoặc elip, đôi khi có dạng bất thường, bên trong bào tử có các hạt. Bào tử thường có màu nâu đậm, có thể xuất hiện màu đen (mã màu từ 60/80/30/10 đến 60/80/100/10). Bào tử có cấu trúc chặt chẽ, khó bị phá vỡ. Kích thước bào tử khoảng 120 – 130 μm . Cấu trúc thành rõ rệt, gồm 4 lớp, chia thành 3 nhóm, trong đó nhóm trong bắt màu tím nhạt khi nhuộm M

Tuyển chọn một số chủng vi khuẩn và nấm rễ Arbuscular Mycorrhizal Fungi (AMF) có khả năng...

STT	Ký hiệu chủng	Nguồn mẫu	Loại vi sinh vật	Đặc điểm, hình thái khuẩn lạc hoặc bào tử
22	AMF 19	ĐH6	Nấm rễ	Bào tử hình cầu, gần hình cầu hoặc hình thận, bề mặt có các gai nhỏ. Bào tử có màu xám xịt hoặc nâu tối (60/80/70/10), kích thước là 150 – 170 µm. Thành bào tử gồm 2 lớp
23	AMF 20	ĐH6	Nấm rễ	Bào tử hình cầu, gần cầu, bề mặt có các lưới đa giác, đa số có màu vàng, số ít có màu nâu (40/60/100/10), kích thước là 160 µm, thành rất mỏng và chỉ có 1 lớp.
24	AMF 21	ĐH6	Nấm rễ	Bào tử có dạng hình cầu hoặc elip, bề mặt có các vết lõm, kích thước 100 – 130 µm. Mã màu bào tử từ 40/60/40/00 đến 40/60/100/10. Thành bào tử có 2 lớp, có phản ứng khi nhuộm M nhưng còn tùy vào lớp thành
25	AMF 22	ĐH9	Nấm rễ	Bào tử có dạng hình trứng hoặc hình trụ, không màu, có thể có màu đậm (60/80/50/10), kích thước là 60 – 80 µm. Thành bào tử có 1 – 3 lớp, bắt màu vàng khi nhuộm M
26	AMF 23	ĐH9	Nấm rễ	Bào tử có dạng hình cầu hoặc gần hình cầu, đôi khi có dạng elip, màu đỏ vàng (mã màu từ 20/60/60/00 đến 20/60/100/10), kích thước bào tử khoảng 120 µm. Thành bào tử có cấu trúc 5 lớp (chia thành 3 nhóm), trong đó lớp 5 bắt màu tím thẫm khi nhuộm M.
27	AMF 24	ĐH9	Nấm rễ	Phần lớn bào tử có dạng hình cầu hoặc gần hình cầu, đôi khi có dạng elip. Bào tử có màu vàng đậm, cá biệt có màu đen (mã màu từ 60/80/20/00 đến 60/80/60/00), kích thước bào tử 100 – 130 µm. Thành bào tử gồm 5 lớp, chia thành 3 nhóm (A, B, C), không bắt màu khi nhuộm M

Bảng 5. Kết quả đánh giá khả năng kháng, hấp thu kim loại nặng của một số chủng vi khuẩn và nấm rễ

STT	Ký hiệu chủng	Loại vi sinh vật	Chì		Kẽm		Đồng	
			Kháng	Hấp thu, chuyển hóa	Kháng	Hấp thu, chuyển hóa	Kháng	Hấp thu, chuyển hóa
1	TB1	Vi khuẩn	> 10 mM		10 mM		>10 mM	
2	TB3	Vi khuẩn	> 10 mM		10 mM		>10 mM	
3	TB8	Vi khuẩn	> 10 mM		10 mM		>10 mM	
4	TB13	Vi khuẩn	> 10 mM		10 mM		>10 mM	
5	TB18	Vi khuẩn	> 10 mM		10 mM		>10 mM	
6	TB22	Vi khuẩn	> 10 mM		10 mM		>10 mM	
7	TB29	Vi khuẩn	> 10 mM		10 mM		>10 mM	
8	AMF 1	Nấm rễ		>1mg Pb/1g glomalin		> 0,5 mg Zn		>3 mg Cu
9	AMF 3	Nấm rễ		>1mg Pb/1g glomalin		> 0,5 mg Zn		>3 mg Cu
10	AMF4	Nấm rễ		>1mg Pb/1g glomalin		> 0,5 mg Zn		>3 mg Cu
11	AMF5	Nấm rễ		>1mg Pb/1g glomalin		> 0,5 mg Zn		>3 mg Cu
12	AMF7	Nấm rễ		>1mg Pb/1g glomalin		> 0,5 mg Zn		>3 mg Cu
13	AMF8	Nấm rễ		>1mg Pb/1g glomalin		> 0,5 mg Zn		>3 mg Cu
14	AMF 16	Nấm rễ		>1mg Pb/1g glomalin		> 0,5 mg Zn		>3 mg Cu
15	AMF 21	Nấm rễ		>1mg Pb/1g glomalin		> 0,5 mg Zn		>3 mg Cu
16	AMF 22	Nấm rễ		>1mg Pb/1g glomalin		> 0,5 mg Zn		>3 mg Cu

Bảng 6. Khả năng hấp thu kim loại nặng trong sinh khối một số chủng vi sinh vật

TT	Ký hiệu chủng	Tổng sinh khối (mg chất khô/l)	Lượng chì tổng số tích lũy trong sinh khối (mg)	Lượng kẽm tổng số tích lũy trong sinh khối (mg)	Lượng đồng tổng số tích lũy trong sinh khối (mg)
1	TB8	4210	81,46	32,77	24,95
2	TB22	5870	193,46	86,54	101,12
3	AMF4	108	657,48	125,80	97,19
4	AMF7	94	412,74	67,38	107,21
5	AMF16	52	249,73	44,19	85,00
6	AMF22	99	590,47	100,09	91,22

3.3. Đánh giá khả năng kết hợp của các chủng vi sinh vật lựa chọn với thực vật trên đất bị ô nhiễm

3.3.1. Hàm lượng kim loại nặng trong đất trước và sau thí nghiệm

Kết quả phân tích mẫu đất vùng rễ trước và sau thí nghiệm cho thấy sự có mặt của các vi sinh vật lựa chọn đã giúp cải thiện đáng kể khả năng này của cây Mương đứng (*Jussiaea fissendocarpa* Haines).

Hàm lượng kim loại trong đất bị giảm ở các công thức tăng theo lượng chế phẩm bón vào đất (Bảng 7). Mức giảm hàm lượng kim loại trong đất sau thí nghiệm so với đất trước thí nghiệm ở các công thức xử lý nấm rễ đều cao hơn đối chứng. Đồng có mức giảm lớn nhất 9,92% ở công thức bón 2 g chế phẩm/kg đất khô, các kim loại chì và kẽm cũng tương tự với tỷ lệ giảm lần lượt là 12,13% và 38,62%.

3.3.2. Ảnh hưởng của vi sinh vật đến sự tích lũy kim loại nặng của cây Mương đứng (*Jussiaea fissendocarpa* Haines)

Hàm lượng kim loại nặng được cây tích lũy trong cơ thể là chỉ tiêu quan trọng phản ánh khả năng xử lý ô nhiễm của loài cây đó. Cây Mương đứng (*Jussiaea fissendocarpa* Haines) đã được nhiều tác giả trong và ngoài nước chứng minh có khả năng tích lũy lượng lớn kim loại nặng trong cơ thể. Tuy nhiên, sự

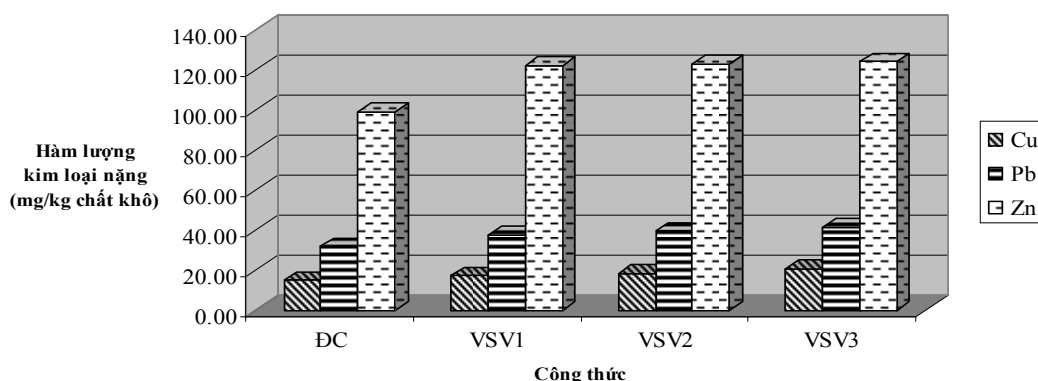
kết hợp với các chủng vi sinh vật có thể giúp tăng hàm lượng kim loại nặng tích lũy trong các bộ phận của cây góp phần rút ngắn thời gian xử lý ô nhiễm (Hình 1 và 2).

Sự hấp thu các kim loại nặng (Cu, Zn, Pb) của cây Mương đứng ở phần rễ tăng theo lượng chế phẩm bón vào đất và tăng cao hơn đối chứng ở mức có ý nghĩa. Ở công thức bón 2 g chế phẩm/kg đất khô mức hấp thu các kim loại nặng đạt cao nhất lần lượt là 124,51 mg/kg Zn; 41,44 mg/kg Pb; 20,57 mg/kg Cu.

Theo Abou-Shanab và cs. (2007), những chủng vi khuẩn được phân lập như RA1, RA2, RA3, RA5 và RA8 có gen 16 S rRNA tương đồng nhất với các chủng tương ứng là *Pseudomonas diminuta*, *Brevundimonas diminuta*, *Nitrobacteria irancium*, *Ochrobactrum anthropi* và *Bacillus cereus*. Cây lan dạ hương nước được nhiễm RA5 và RA8 đã tăng sự tích lũy Mn trong rễ tương ứng là 2,4 và 1,2 lần so với cây đối chứng. Phần trên mặt nước của cây lan dạ hương nước được nhiễm RA3 đã tích lũy Cr và Zn cao nhất với nồng độ lần lượt là 0,4 mg/kg là 0,18 mg/kg. Cây có lây nhiễm RA1, RA2, RA3, RA5, RA7 và RA8 có sự tích lũy Cr trong rễ cao hơn đối chứng lần lượt là 7, 11, 24, 29, 35 và 21 lần. Đây là những vi khuẩn đầy tiềm năng cho việc xử lý sinh học các vùng đất ô nhiễm crom.

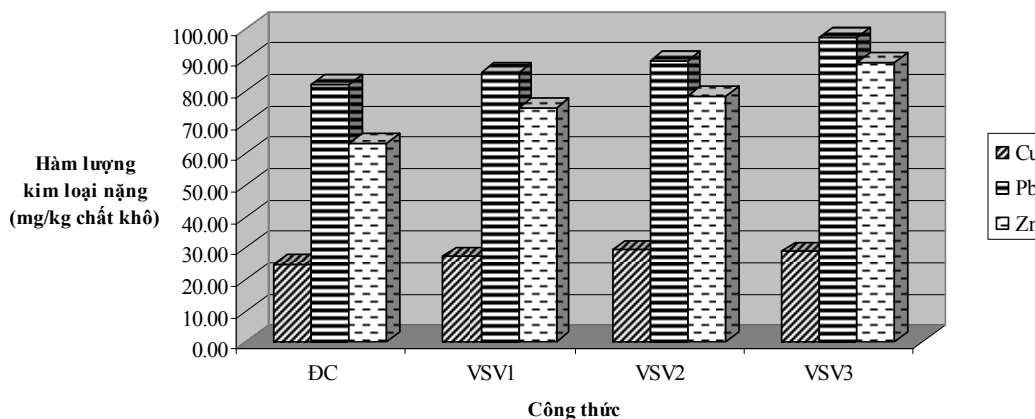
Bảng 7. Hàm lượng kim loại nặng trong đất trước và sau thí nghiệm

Hàm lượng kim loại nặng trong đất trước thí nghiệm (mg/kg đất khô)						
	Cu		Pb		Zn	
	70,59		358,33		108,32	
Hàm lượng kim loại nặng trong đất vùng rễ sau thí nghiệm (mg/kg đất khô)						
Công thức	Cu	Tỷ lệ giảm (%)	Pb	Tỷ lệ giảm (%)	Zn	Tỷ lệ giảm (%)
Đối chứng	65,10	7,78	319,63	10,80	71,98	33,55
VSV1 (0,5 g/kg đất khô)	64,25	8,98	317,43	11,41	67,22	37,94
VSV2 (1,0 g/kg đất khô)	63,91	9,46	316,66	11,63	67,03	38,12
VSV3 (2,0 g/kg đất khô)	63,59	9,92	314,88	12,13	66,49	38,62



Hình 1. Ảnh hưởng của vi sinh vật đến sự tích lũy kim loại nặng trong rễ cây Mướp đắng (*Jussiaea fissendocarpa* Haines)

Ghi chú: CV(%) và $LSD_{0,05}$ tương ứng với Cu, Pb, Zn: 3,53 và 1,17; 3,95 và 2,80; 3,80 và 8,41



Hình 2. Ảnh hưởng của vi sinh vật đến sự tích lũy kim loại nặng trong thân lá cây Mướp đắng (*Jussiaea fissendocarpa* Haines)

Ghi chú: CV(%) và $LSD_{0,05}$ tương ứng với Cu, Pb, Zn: 3,78 và 1,96; 4,93 và 8,24; 4,83 và 6,94

Trong thân lá, lượng kim loại nặng được tích lũy cũng tăng theo lượng chế phẩm bón và tăng cao hơn đối chứng tuy lượng tích lũy thấp hơn ở rễ. Mức hấp thu cao nhất đối với nguyên tố đồng là 28,85 mg/kg chất khô, tức là tăng 14,15% so với đối chứng. Nguyên tố kẽm có lượng hấp thu cao nhất ở công thức 3 với 88,95 mg/kg, tăng 28,80% so đối chứng. Nguyên tố chì có mức tăng cao nhất so đối chứng đạt 97,22 mg/kg, tăng so với đối chứng đạt 25,48%.

Kết quả về lượng hấp thu nguyên tố kẽm nêu trên thấp hơn nhiều lần so với nghiên cứu của các nhà khoa học Li & cs. (2007) khi nghiên cứu ảnh hưởng của chủng vi khuẩn *Burkholderia cepacia* sống ở vùng rễ đến sự hấp thu kim loại nặng ở loài cây siêu tích lũy (hyperaccumulating plants) *Sedum alfredii* đã cho thấy sự ảnh hưởng của chúng đến sự hấp thu chất khoáng và khả năng chống chịu, tích lũy kim loại nặng của cây. Nồng độ Cd trong thân lá và rễ đạt tới 1.210 mg/kg và 10.850 mg/kg, còn Zn trong rễ và thân lá đạt tới 23.250 mg/kg và 29.310 mg/kg. Trong khi đó, tỷ lệ tăng so với đối chứng của các công thức nhiễm vi sinh vật của nghiên cứu lại cao hơn kết quả của các nhà khoa học Trung Quốc (sự hấp thu Cd và Zn trong thân lá chỉ tăng lên từ 36,5 - 243% và 12,2 - 96,3% so đối chứng).

4. KẾT LUẬN

- Hầu hết các mẫu đất thu thập được ở các khu vực nghiên cứu đều ô nhiễm kim loại nặng (Cu, Zn Pb) so với quy chuẩn Việt Nam. Nhiều mẫu đất nông nghiệp ở ven các làng nghề tái chế kim loại có mức ô nhiễm rất cao. Một số khu vực thuộc bãi thải và trước cửa mỏ kẽm chì Làng Hích cũng bị ô nhiễm kim loại nặng.

- Kết quả đã phân lập được 64 chủng vi khuẩn và nấm rễ (trong đó có 49 chủng vi khuẩn, 15 chủng nấm rễ AMF). Đánh giá khả

năng kháng, hấp thu 3 kim loại nặng cho thấy có 11/14 chủng vi khuẩn có khả năng kháng > 10 mM Zn; >10 mM Cu và > 10 mM Pb, 9/16 chủng nấm rễ có khả năng kháng >5 mM kim loại nặng. Mức hấp thu cao nhất ở các chủng vi khuẩn TB22 và chủng nấm rễ AMF4.

- Thí nghiệm đánh giá khả năng kết hợp của các chủng vi sinh vật lựa chọn với cây mướp đắng cho thấy các vi sinh vật đã làm tăng khả năng hấp thu kim loại nặng của cây ở cả thân lá và rễ. Mức hấp thu cao nhất ở công thức bón 2 g chế phẩm/kg đất khô.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Abou-Shanab R. A. I; J. S. Angle; P. van Berkum (2007). "Chromate - Tolerant Bacteria for Enhanced Metal Uptake by *Eichhornia Crassipes* (MART.)", *International Journal of Phytoremediation*, 1549 - 7879, Vol 9, Issue 2, pp. 91 - 105.
- Đặng Thị An, (2008). Đất bị ô nhiễm kim loại nặng ở một số khu vực ở Việt Nam, *Tạp chí Khoa học đất*, số 29, tr.59 - 61.
- Benson (2001). Microbiological applications: Laboratory manual in General Microbiology, Eighth Edition, The Mc Graw - Hill Comparrier.
- Hawkes, S. J. (1997). "What Is a Heavy Metal?" *Journal of Chemical Education* 74, (p.1374).
- Lê Đức và Lê Văn Khoa (2001). Tác động của hoạt động làng nghề tái chế đồng thủ công xã Đại Đồng, Văn Lâm, Hưng Yên đến môi trường đất khu vực xung quanh, *Tạp chí Khoa học đất*, số 14, tr.48 - 52.
- W. C. Li, Z. H. Ye and M. H. Wong. 2007, "Effects of bacteria on enhanced metal uptake of the Cd/Zn-hyperaccumulating plant, *Sedum alfredii*". *Oxford Journals , Journal of Experimental Botany*, V 58, Number 15-16, pp. 4173 - 4182.